

芪苈强心胶囊治疗慢性心力衰竭大鼠的实验研究

林锐波 朱剑荣 王 伟 傅玉才

摘 要 **目的** 观察芪苈强心胶囊对慢性心力衰竭大鼠心功能及凋亡蛋白 caspase-3 的影响,探讨治疗慢性心力衰竭的作用机制。**方法** 结扎大鼠冠状动脉左前降支,建立 AMI 模型,存活者随机分为模型组、芪苈强心胶囊高、中、低剂量组(简称高、中、低剂量组)和卡托普利组,另设假手术组。芪苈强心胶囊组术后予药粉 1.2g/(kg·d)、0.6g/(kg·d)、0.3g/(kg·d) 治疗,卡托普利组予卡托普利 25mg/(kg·d) 治疗,模型组和假手术组仅予等体积生理盐水,治疗 4 周后对相关指标进行检测。**结果** 与模型组相比,芪苈强心胶囊能有效降低各治疗组体重(BW)、心脏质量指数(HMI)、左心室质量指数(LVMI)及左心室舒张末压(LVEDP),有效增加左心室收缩末压(LVSP)左心室最大压力上升及下降速度($\pm dp/dtmax$),以高剂量组较为明显;模型组 caspase-3 蛋白表达较假手术组显著增加,芪苈强心胶囊治疗高、中剂量组较模型组显著降低。**结论** 芪苈强心胶囊治疗能明显改善 AMI 心力衰竭大鼠心功能,下调 caspase-3 蛋白表达水平,有效抑制心力衰竭后心肌细胞凋亡。推测芪苈强心胶囊能有效改善心功能的作用机制可能与其抑制心肌重构及心肌细胞凋亡有关。

关键词 芪苈强心胶囊 心肌梗死 心力衰竭 凋亡 caspase-3

The Effect of Qiliqiangxin on Chronic Heart Failure Rat Model. Lin Ruibo, Zhu Jianrong, Wang Wei, Fu Yucai. Department of Cardiology, First Affiliated Hospital of Shantou University Medical College, Guangdong 515041, China

Abstract Objective To evaluate Qiliqiangxin capsule for improving cardiac function and identify Qiliqiangxin capsule for directing cytoprotective effects against apoptosis of cardiomyocytes. **Methods** Sprague Dawley (SD) rats were tested as subjects and the model rats were built by anterior descending coronary deligation, then the survival rats were divided into 6 groups randomly: sham-operated group (sham, $n=8$), fed with normal saline of same volume instead; control group (control, $n=7$), fed with normal saline of same volume instead; Qiliqiangxin great dosage group (great, $n=9$), Qiliqiangxin 1.2g/(kg·d) treatment; Qiliqiangxin medium dosage group (medium, $n=9$), Qiliqiangxin 0.6g/(kg·d) treatment; Qiliqiangxin small dosage group (small, $n=8$ rats), Qiliqiangxin 0.3g/(kg·d) treatment; the captopril group (captopril, $n=9$), captopril 25mg/(kg·d) treatment. 24 hours later, rats in sham operated group and model group were given normal saline, rats in treating group were given Qiliqiangxin, rats in the contrasting group were given captopril. After being treated for 4 weeks, all rats' heart function was measured by right flank arteria carotis communis arterial cannula. The left ventricle mass index was calculated and the expression of protein caspase-3 was tested by immunohistochemical method and Western blot. **Results** Compared with control group, Qiliqiangxin capsule could reduce effectively BW, HMI, LVMI, increase LVEDP and LVSP, $+dp/dtmax$ and $-dp/dtmax$. Immunohistochemical analysis and Western blot analysis showed that administration of Qiliqiangxin significantly inhibited caspase-3 expressions in myocardial cells in a dose-dependent manner. **Conclusion** Qiliqiangxin significantly improved the CHF rat's cardiac function and reduced the left ventricle mass index and heart mass index 4 weeks after being treated with relative high dose Qiliqiangxin. It might be partially attributed to the suppression of caspase-3 expressions.

Key words Qiliqiangxin; Chronic heart failure; AMI; caspase-3

慢性充血性心力衰竭(CHF)是多种心血管疾病的最终归宿,也是临床上常见的危重病之一。目前治疗 CHF 的药物有洋地黄、利尿剂、血管扩张剂、血管紧张素转换酶抑制剂及 β 受体阻滞剂等,由于发病过程复杂,病理生理未完全阐明,疗效也不是很满意。

然而,随着分子、细胞生物学以及基因工程研究的不断深入,新理论不断提出和治疗观点不断更新,尤其是对治疗药物的重新评价和新药的应用,使得 CHF 的治疗出现了新的曙光。芪苈强心胶囊是以黄芪、附子为君药,人参、丹参、葶苈子为臣药,陈皮、红花、泽泻、香加皮、玉竹为佐药,桂枝为使药制成的纯中药复方制剂。药理研究证实,其中药成分能够降低体内的肾素、血管紧张素、脑利钠肽水平,改善心力衰竭患者体内的神经内分泌的过度激活,具有强心、利尿、扩血

作者单位:515041 广东省汕头大学医学院第一附属医院心血管内科(林锐波、王伟);529100 广东省江门市新会沙堤医院(朱剑荣);515041 广东省汕头大学医学院细胞衰老实验室(傅玉才)

管作用^[1-3]。芪苈强心胶囊根据中医络病理论组方,主要用于轻、中度慢性充血性心力衰竭治疗。临床已证实中药芪苈强心胶囊可以改善心力衰竭患者的心功能,但其具体作用机制尚未明了^[4,5]。本实验旨在通过对大鼠 AMI 后致慢性心力衰竭模型进行干预,研究芪苈强心对心力衰竭大鼠心功能及心肌细胞凋亡的影响,探讨该药治疗心力衰竭的药理机制。

材料与方法

1. 主要试剂和仪器:芪苈强心胶囊,河北以岭医药集团惠赠;卡托普利(开博通),12.5 毫克/片,中美上海施贵宝制药有限公司生产,批号 0609032H;抗 caspase-3 单克隆抗体和辣根过氧化物酶标记山羊抗兔二抗均购于 sigma 生物技术有限公司;ABC 试剂盒:Vector 公司;棕色 DAB 显色试剂盒:北京中山生物技术有限公司。

2. 实验动物模型制作及分组:清洁级健康雄性 SD 大鼠,体质量 200~250g,由广州医学动物实验研究中心提供(实验动物使用许可证号:SYXK(粤)2007-0079)。参考文献方法^[6],在左冠状动脉起源点下 2.0~3.0mm 处,结扎左冠状动脉主干造成心肌梗死模型,随即逐层缝合胸壁。假手术组除不结扎冠状动脉外,其余操作均与心肌梗死组动物相同。心力衰竭大鼠模型评估指标:术中标准肢 II 导联心电图 T 波高耸,ST 连接部明显抬高,结扎部位以下扇形区域心肌搏动减弱,颜色由粉红色变暗苍白者为结扎成功。有研究表明结扎左冠状动脉前降支手术大鼠行血流动力学测定,左心室舒张末压(LVEDP)≥15mmHg 以上,即可认为此方法能成功复制 SD 大鼠心力衰竭模型^[7]。SD 大鼠按上述方法造模后,存活者随机分成 6 组:假手术组 8 只;高、中、低剂量组、卡托普利组(阳性对照组)、模型组各 10 只。各组动物饲以正常饮水与饲料的同时,术后 24h 开始给药或蒸馏水,每天 2 次,连续 28 天。

3. 标本采集及指标检测:(1)一般观察:包括进食量、饮水量、体重、外观毛色、活动情况、精神状态、粪便等。(2)血流动力学指标测定:最后一次灌胃后禁食 12h,实验大鼠称重后腹腔注射 3% 戊巴比妥钠(40mg/kg)麻醉,连接 BL-420E 生物功能实验系统,经右颈总动脉插入自制的心室插管(充满 1% 肝素),缓慢推进导管进入左心室,当波形由血压波变成下沿达 0mmHg 附近具有明显舒张压期波形时表明导管已进入左心室腔内,导管另一端连接压力传感器,稳定 10min 后通过多导生理记录仪同步记录心率(HR)、左心室收缩末压(LVSP)、左心室舒张末压(LVEDP)、左心室最大压力上升及下降速度($\pm dp/dtmax$)。取 3 次测定结果的平均值作为实验值。

4. 取材:处死大鼠后,立即取出心脏置于冷生理盐水(4℃)冲洗,除去残血,滤纸吸干水分,电子天平分别称取全心重量(THW)、左心室实际重量(LVW)并分别除以体重(BW),以 THW/BW 即心脏质量指数(HMI)、LVW/BW 即左心室质

量指数(LVMI)。

5. 免疫组化(ABC 法,即卵白素-生物素-过氧化物酶标记法)检测蛋白 caspase-3:取正常及伤后大鼠的缺血区的心肌组织固定、包埋、切片,切片厚度 4μm。使用 ABC 法,即卵白素-生物素-过氧化物酶标记法检测蛋白 caspase-3。DAB 显色,切片中以胞质呈棕色(棕黄、棕色、棕褐色)为阳性。caspase-3 在胞质表达,以阳性细胞的累积光密度(integrated optical density, IOD)衡量表达水平,IOD 的测量按照文献^[8]描述的方法。从同一只大鼠的 3 张免疫组化切片中选取 5 个视野进行测量,取平均数代表一只大鼠。

6. Western-blot 检测 caspase-3 蛋白:取正常及伤后大鼠的缺血区的心肌组织蛋白 50μg,行 SDS-PAGE 分离后,电转移至硝酸纤维素膜(NC 膜)上。5% 脱脂奶粉室温下封闭 30min,加入 caspase-3 蛋白多克隆抗体(用封闭液 1:1000 稀释),4℃ 孵育过夜;PBS 洗 3 次,每次 10min;置于生物素标记的二抗(用封闭液 1:1000 稀释)中,室温孵育 1h;PBS 洗 3 次,每次 10min;置于 1:500 稀释的 ABC 试剂中,室温孵育 30min;PBS 洗 3 次,每次 10min;用 ECL 系统进行检测,X 线片显影;Quantity One (BioRad, USA)软件分析目的条带的灰度值。

7. 统计分析:采用 SPSS13.0 for windows 统计软件,表中实验数据用($\bar{x} \pm s$)表示,两组间数据比较用 *t* 检验,多组间数据比较用方差分析,组间两两比较采用 LSD 法。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. 实验动物数量及一般情况分析:在实验观察终点时,纳入统计大鼠假手术组 8 只,模型组 7 只,低剂量组 8 只,其余组各 9 只。实验过程中死亡大鼠死因主要为严重心律失常、呼吸衰竭、急性心力衰竭、出血及术后感染。治疗期间,除假手术组外,各组大鼠均出现不同程度的倦卧、脱毛、消瘦、厌食、便溏等症状。其中以未经任何治疗的模型组最重,该组大鼠一般状态差,表现为活动度显著下降,进食及饮水量明显减少,呼吸急促。开始治疗后各治疗组大鼠状态普遍有所改善。

2. 体重、心脏质量、左心室质量指数结果:治疗 4 周后,与假手术组相比,模型组大鼠 BW 升高,心脏质量与体重的比值(HMI)、左心室质量与心脏质量的比值(LVMI)也升高明显,差异均具有极显著意义,说明冠脉结扎所致的 CHF 大鼠心肌肥厚明显,造模成功;与模型组比较,高、中剂量组和卡托普利组 BW 升高,HMI、LVMI 显著降低,低剂量组 BW 升高、HMI 降低,两组 LVMI 无明显差异;与高剂量比较,仅低剂量组 LVMI 明显升高,其余治疗组各指标无统计学差异。说明高、中剂量组和卡托普利能明显缓解心室肥厚,但以高剂量组最为明显(表 1)。

表 1 各组大鼠的体重、心脏质量指数、左心质量指数($\bar{x} \pm s$)

组别/指标	n	BW (g)	HMI (mg/g)	LVMI (mg/g)
假手术组	8	312.90 ± 29.66	2.91 ± 0.40	1.84 ± 0.29
模型组	7	273.23 ± 23.35 ^{*△}	3.79 ± 0.41 [*]	3.10 ± 0.50 [*]
高剂量组	9	301.59 ± 24.20 [#]	3.10 ± 0.38 [#]	2.19 ± 0.23 ^{*#}
中剂量组	9	306.88 ± 24.60 [#]	3.18 ± 0.48 [#]	2.43 ± 0.37 ^{*#}
低剂量组	8	293.01 ± 36.41 [#]	3.31 ± 0.17 [#]	2.73 ± 0.35 ^{*&}
卡托普利组	9	303.96 ± 19.29 [#]	3.22 ± 0.41 [#]	2.30 ± 0.41 ^{*#}

与假手术组相比,^{*} $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$;与高剂量组比较,[&] $P < 0.05$;与中剂量组比较,[△] $P < 0.05$

3. 芪苈强心对心力衰竭大鼠血流动力学指标的影响:6 组大鼠间 HR 无显著性差异。与假手术组相比,模型组大鼠 LVSP、+ dp/dtmax、- dp/dtmax 显著降低,LVEDP 均显著升高,提示冠脉结扎所致的 CHF 大鼠心脏收缩、舒张功能明显受损,存在着严重的心功能障碍;与模型组比较,卡托普利组及芪苈强心胶囊各剂量组 LVSP、+ dp/dtmax、- dp/dtmax 显著升高,LVEDP 明显降低,提示芪苈强心胶囊、卡托普利均能有效改善心功能;与高剂量组比较,中剂量组仅 + dp/dtmax、- dp/dtmax 下降有统计学差异,低剂量

组 LVSP、+ dp/dtmax、- dp/dtmax 显著性降低,而 LVEDP 有所升高,托普利组仅 - dp/dtmax 降低,提示高剂量组改善血流动力学方面疗效优于中、低剂量组,并卡托普利组疗效接近;与中剂量组比较,低剂量组 + dp/dtmax 降低,卡托普利组 + dp/dtmax、- dp/dtmax 显著性升高,推断中剂量组与低剂量组疗效接近并稍优于后者,但较卡托普利组疗效差。综上所述,在改善血流动力学方面,高剂量组优于中剂量、低剂量组,与卡托普利组无显著差别;中剂量组稍优于低剂量组但均较卡托普利组稍差(表 2)。

表 2 各项血流动力学参数($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HR (bpm)	LVSP (mmHg)	LVEDP (mmHg)	+ dp/dtmax (mmHg/s)	- dp/dtmax (mmHg/s)
假手术组	8	419 ± 14	120.81 ± 8.54	5.71 ± 0.85	7525.37 ± 282.41	6469.90 ± 370.12
模型组	7	420 ± 17	77.50 ± 12.64 [*]	16.65 ± 1.53 [*]	4393.46 ± 150.36 [*]	3609.38 ± 127.88 [*]
高剂量组	9	424 ± 10	110.24 ± 9.82 ^{*#}	10.51 ± 2.00 ^{*#}	6777.12 ± 212.6 ^{*#}	6804.73 ± 161.73 ^{*#}
中剂量组	9	420 ± 13	107.77 ± 10.71 ^{*#}	11.04 ± 2.52 ^{*#}	6213.35 ± 98.83 ^{*#&}	4506.49 ± 385.20 ^{*#&}
低剂量组	8	420 ± 14	98.46 ± 10.94 ^{*#&}	12.72 ± 1.64 ^{*#&}	4644.56 ± 184.81 ^{*#&△}	4481.47 ± 146.51 ^{*#&}
卡托普利组	9	426 ± 16	105.43 ± 7.60 ^{*#}	11.24 ± 3.53 ^{*#}	6810.54 ± 254.23 ^{*#△}	5497.18 ± 139.52 ^{*#&△}

与假手术组相比,^{*} $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$ 。与高剂量组比较,[&] $P < 0.05$;与中剂量组比较,[△] $P < 0.05$

4. 免疫组化结果:假手术组 caspase-3 表达的累积光密度为 0.04 ± 0.01 ,模型组 0.32 ± 0.03 ,高、中、低剂量组分别为 0.07 ± 0.01 、 0.13 ± 0.02 、 0.28 ± 0.02 ,而卡托普利组 0.15 ± 0.10 ;各组与假手术组比较均有显著意义,各治疗组与模型组比较均有显著意义,芪苈强心胶囊各剂量组间比较均有显著意义,且具有剂量依赖性。说明芪苈强心胶囊高、中、低剂量和卡托普利对 caspase-3 均具有抑制作用,高剂量组的抑制作用明显优于其他各治疗组(图 1、图 2)。

5. Western-blot 结果:与假手术组相比,模型组和低剂量组 caspase-3 蛋白表达水平显著升高,中剂量组明显升高,与高剂量组和卡托普利组没有统计学差异;与模型组相比,高、中剂量组和卡托普利组 caspase-3 蛋白表达水平均显著下降,而与低剂量组没有统计学差异;中剂量组和卡托普利组 caspase-3

蛋白表达水平均较低剂量组显著降低。提示芪苈强心胶囊有抑制 caspase-3 蛋白表达的作用(图 3、图 4)。

讨 论

本实验结果显示,心肌梗死后 4 周,手术大鼠 LVSP、+ dp/dt、- dp/dt 较假手术组显著降低,而 LVEDP 显著增高,提示心力衰竭。心力衰竭时,肾素血管紧张素系统(RAS)活性激活,心脏合成分泌的利钠肽增加但利钠和扩张血管能力减弱,导致心肌细胞损害、间质胶原沉积,心功能恶化。血管紧张素转化酶抑制剂卡托普利,能够阻断血管紧张素 II 的形成和阻止缓激肽的降解,明显降低心力衰竭时左心室舒张末压、室壁张力,改善心功能^[9]。本实验结果也证实卡托普利能够明显改善心力衰竭大鼠的心功能,减轻心脏及左心室肥厚,同时发现芪苈强心胶囊也具有相似作用。

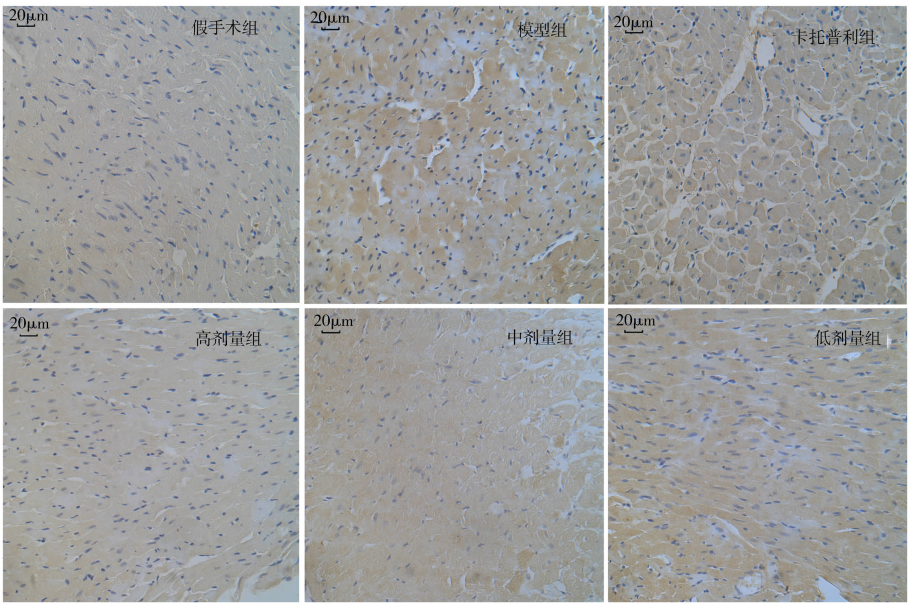


图 1 caspase - 3 在各组心肌细胞的表达 (DAB 染色, 胞质褐色颗粒, × 400, 图中标尺 20µm)

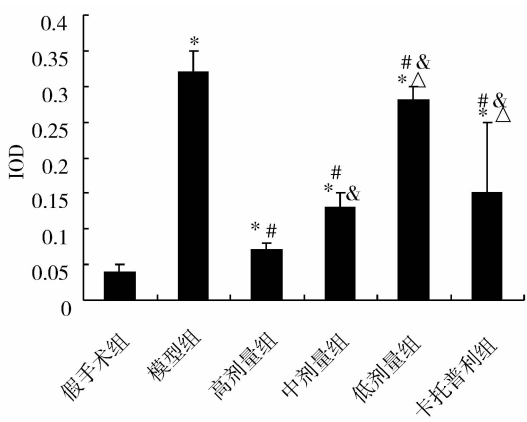


图 2 caspase - 3 在各组心肌细胞表达的累积光密度
与假手术组相比, * $P < 0.05$; 与模型组比较, # $P < 0.05$; 与高剂量组比较, & $P < 0.05$; 与中剂量组比较, △ $P < 0.05$

研究发现心力衰竭的情况下均有心肌细胞凋亡^[10]。心力衰竭时出现心肌细胞凋亡,可能与心脏局部 RAS 的过度激活,以及心室内压显著增加有关。细胞凋亡是一种受基因调控的主动性细胞死亡,表现为凋亡信号通路的启动及相关基因的表达。caspase - 3 是凋亡发生过程中所需要的一种重要的蛋白酶,同时也是凋亡发生的标志酶^[11]。心肌细胞凋亡或通过死亡受体途径或通过线粒体途径激活 caspases 家族,最终导致细胞死亡^[12]。无论是死亡受体途径还是线粒体途径,最终均需通过激活下游的 caspases 家族成员 caspase - 3,执行心肌细胞凋亡过程^[13]。caspase - 3 激活导致细胞凋亡,而心肌细胞凋亡增多可降低心脏功能,细胞凋亡的多少决定着缺

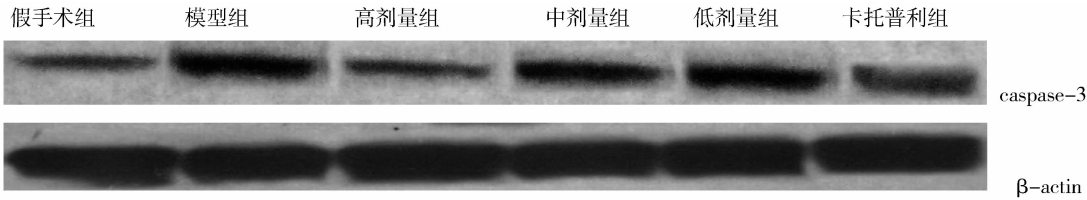


图 3 Western blot 法检测 caspase - 3 蛋白的表达

血再灌注损伤的轻重和心功能的好坏。从而提示抑制 caspase - 3 激活减少细胞凋亡,可以对缺血再灌注心肌损伤的防治和心功能的保护作用。

本实验发现,芪苈强心胶囊能够下调心力衰竭大鼠 caspase - 3 表达水平,芪苈强心胶囊干预后心力衰

竭大鼠的临床症状和心功能指标均得到明显改善,与模型组比较差异有统计学意义。提示芪苈强心胶囊能有效改善 CHF,有效抑制心力衰竭后心肌细胞凋亡,改善或延缓心力衰竭的形成和发展,这可能是芪苈强心胶囊治疗 CHF 的作用机制之一。

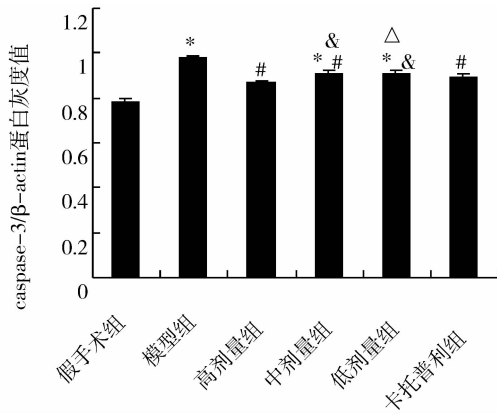


图4 各组大鼠 caspase-3 蛋白表达水平的变化 ($n=3, \bar{x} \pm s$)

与假手术组相比, * $P < 0.05$; 与模型组比较, # $P < 0.05$; 与高剂量组比较, & $P < 0.05$; 与中剂量组比较, Δ $P < 0.05$

参考文献

- 何居仁, 马丹军. 黄芪注射液治疗充血性心力衰竭作用机理探讨[J]. 上海医药, 2000, 21(1): 25226
- 杨孟考. 单味葶苈子治疗顽固性心衰 23 例[J]. 中国社区医师, 2002, 18(20): 40
- 李刚毅, 苏廷秀. 治疗充血性心功能不全及葶苈子应用之管见[J]. 实用中医内科杂志, 1995, 9(3): 18219
- 薛立新, 冯莉. 芪苈强心胶囊治疗慢性充血性心力衰竭 40 例[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2008, 6(5): 584, 585
- 孙立平, 张林潮. 芪苈强心胶囊治疗慢性充血性心力衰竭的疗效

- 观察[J]. 疑难病杂志, 2007, 6(2): 71, 72
 - 郭鹂. 人类疾病的动物模型[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982: 146, 147, 177
 - 张冬颖, 罗羽慧. 冠状动脉结扎与腹主动脉缩窄所致慢性心力衰竭大鼠模型比较[J]. 中国微循环, 2005, 9(3): 171-174
 - Xavier LL, Viola GG, Ferraz AC, et al. A simple and fast densitometric method for the analysis of tyrosine hydroxylase immunoreactivity in the substantia nigra pars compacta and in the ventral tegmental area. Brain Res Brain Res Protoc, 2005, 16(1-3): 58-64
 - Francis G. Spinale, Henry H. Holzgrefe, Rupak Mukherjee, et al. Angiotensin in Converting Enzyme Inhibition and the Progressing of Congestive Cardiomypathy: Effect on Left Ventricular and Myocyte Structure and Function. Circulation, 1995, 92: 562-578
 - Kang, P. M. and S. Izumo. Apoptosis in heart: basic mechanisms and implications in cardiovascular diseases. Trends Mol Med, 2003, 9(4): p. 177-182
 - Higuchi, M., B. B. Aggarwal, and E. T. Yeh. Activation of CPP32-like protease in tumor necrosis factor-induced apoptosis is dependent on mitochondrial function. J Clin Invest, 1997, 99(7): p. 1751-1758
 - Prabhu SD, Wang G. Luo J, et al. Beta-Adrenergic receptor blockade modulates Bcl-X(S) expression and reduces apoptosis in failing myocardium[J]. Mol Cell Cardiol, 2003, 35(5): 483-493
 - Herbeuval JP, Lambert C, Sabido O, et al. Macrophages from cancer patients: analysis of TRAIL, TRAIL receptors, and colon tumor cell apoptosis[J]. Natl Cancer Inst, 2003, 95(8): 611-621
- (收稿: 2009-12-24)

不同糖代谢状态与早期动脉粥样硬化相关性研究

窦连军 孙子林 梁军 吴庆强 张彤 司冬芹 赵爱婷 张佳青

摘要 目的 探讨不同糖代谢状态与早期动脉粥样硬化(AS)诊断指标——颈股脉搏波速度(cf-PWV)和颈动脉内膜中层厚度(IMT)之间的关系,并进一步研究其影响因素。**方法** 141例研究对象被分为5组:正常糖耐量组(NGT)、空腹血糖异常组(IFG)、糖耐量异常组(IGT)、IFG+IGT组和初发糖尿病组(PDM),比较各组一般临床资料、各项生化指标、cf-PWV、IMT、空腹胰岛素(FINS)、胰岛素抵抗指数(IRI)。**结果** IFG、IGT、IFG+IGT和PDM各组研究对象的cf-PWV和IMT较NGT组均有显著升高($P < 0.01$),IGT组和PDM组的cf-PWV高于IFG组($P < 0.05$),IGT、IFG+IGT和PDM 3组间的cf-PWV值差异无统计学意义,IFG、IGT、IFG+IGT 3组的IMT值逐渐增加,但3组间两两比较差异无统计学意义。多元逐步回归分析显示:年龄、OGTT2h血糖、收缩压、总胆固醇是cf-PWV的独立危险因素;年龄、空腹血糖、FINS、IRI是IMT独立危险因素。**结论** 糖耐量异常人群(包括IFG、IGT、IFG+IGT、PDM)cf-PWV和IMT显著增加,表明AS在糖尿病前期就已经开始。

关键词 糖耐量异常 颈股脉搏波速度 颈动脉内膜中层厚度 动脉粥样硬化

Research of Association of Early Atherosclerosis with Different Glucose Metabolism Status. Dou Lianjun, Sun Zilin, Liang Jun, Wu Qingqiang, Zhang Tong, Si Dongqin, Zhao Aiting, Zhang Jiaqing. Department of Endocrinology, Xuzhou City Centre Hospital, The Affil-

作者单位:221009 江苏省徐州市中心医院、东南大学医学院附属徐州医院内分泌科(窦连军、梁军、吴庆强、张彤),血管病变早期检测中心(赵爱婷),超声检查室(张佳青);210009 南京,东南大学医学院附属中大医院内分泌科(孙子林)